

Гармонизация определения инсектицидных субстанций в целях контроля производства и мониторинга готовых композиций

Часть II. Разработка метода определения и его внедрение

Носикова Л. А.^{1,2}, Кочетов А. Н.^{1,2},
kochchem@mail.ru

¹МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова), 119571, Россия, Москва, пр. Вернадского, 86

²ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина (ИФХЭ) РАН, 119991, Россия, г. Москва, Ленинский пр., 31

На конкретном примере рассмотрена возможность определения методом ОФ ВЭЖХ сложной многокомпонентной композиции на основе трех действующих веществ инсектицидных субстанций двух различных групп – пиретроидных инсектицидов (тетраметрина и альфа-циперметрина) и производного фенилпиразолонового ряда (фипронил). На модельных растворах и экспериментальном образце представлены варианты решения аналитической задачи, рассмотрены аспекты перевода субстанций из простейшего варианта препаративной формы (эмульсионного концентрата) в раствор. Показаны алгоритмы создания методики, а также последовательного установления метрологических характеристик количественного химического анализа на примере субстанции неоникотиноидного ряда (тиаклоприда), заключенной в пищевую гелеобразную матрицу. Приведены рекомендации по созданию методик для широкого круга инсектицидных субстанций, используемых в практике пест-контроля.

Ключевые слова: инсектицидные субстанции, определение содержания, пест-контроль, действующее вещество, пиретроиды, фенилпиразолы, неоникотиноиды, ОФ ВЭЖХ, фипронил, тетраметрин, циперметрин, альфа-циперметрин, тиаклоприд, изомерный состав.

ВВЕДЕНИЕ

Данная публикация является продолжением статьи, представляющей решение комплексной методической задачи [1]. На примере препаративной формы из группы концентратов эмульсий рассмотрено влияние различных факторов на создание методики анализа, а также процедуры установления метрологических характеристик.

Эмульсионные концентраты инсектицидов – одна из самых многочисленных и доступных препаративных форм, которая применяется сейчас на рынке пест-контроля. Использование инсектицидов разных классов при минимальном наборе вспомогательных компонентов и простые аппаратные решения в условиях производства обеспечивают широкую заинтересованность в данной препаративной форме целевой аудитории. Это достаточно простые рецептуры, включающие помимо действующих веществ солюбилизатор (органический растворитель), эмульгатор (поверхностно активное вещество) и небольшое число вспомогательных добавок (пе-

ногасители, красители и проч.). Однако даже такая относительно простая препаративная форма способна ставить перед сотрудниками производственного и инспекционного контроля достаточно серьезные методические задачи, а в случае использования нескольких действующих веществ одновременно задача значительно усложняется. При наличии на производстве различных типов препаративных форм инсектицидов отработку общих методических задач рациональнее начинать именно с данной формы, поскольку это наименее сложная система в плане влияния матрицы (вспомогательных компонентов) на конечный результат по определяемому инсектициду.

Отметим, что рассмотренные в данной публикации методические подходы внедрения ОФ ВЭЖХ – установление границ применимости и выбор оптимальных режимов – аналогичны методическим аспектам применения ГЖХ.

На примере эмульсионного концентрата, представляющего композицию из трех инсектицидов, были отработаны варианты извлечения

инсектицидных субстанций с указанием способов пробоподготовки, условий проведения хроматографического определения и примерами хроматограмм.

Показано установление количественных характеристик методики химического анализа на примере определения содержания тиаклоприда в гелеобразной пищевой матрице.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований использовали технические субстанции китайского и индийского производства с паспортным содержанием действующих веществ более 96%.

Использовали следующие реагенты и растворители: изопропанол (х. ч., ГОСТ 18300-87), хлороформ (х. ч., ТУ 6-09-06-4263), ГОСТ 10455-80), уксусная кислота (х. ч., ГОСТ 61-75), диметилсульфоксид (х. ч., ТУ 2635-114-44493179-08); вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72), ацетонитрил (для ВЭЖХ, Rapraeas, Испания) использовались без предварительной очистки.

Проведение ВЭЖХ в сочетании с УФ-детектированием осуществляли на хроматографе Waters 490 (Waters Ltd., Watford, UK), оснащенный насосом Altex модели 110A, инжектором Rheodyne с объемом петли 20 мкл, УФ-детектором модели 490 с переменной длиной волны. Альтернативно использовали хроматограф «Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО «Хроматек», Россия), оснащенный

инжектором Rheodyne с объемом петли 20 мкл и ультрафиолетовым детектором. Подвижная фаза предварительно дегазировалась при помощи ультразвуковой установки, скорость потока при элюировании, соотношение компонентов, тип колонки и длины волн при детектировании (температура комнатная) указаны в подписях к рисункам и таблице 1. Запись хроматограмм проводили с помощью программы «Мультихром» (Ampersand Ltd. версия 1.52i, Россия) и «Хроматек-Аналитик» (ЗАО «Хроматек», Россия).

В процессе работы готовили премиксы анализируемых субстанций в хлороформе с концентрациями 5-10 мг/мл. Разбавлением премиксов изопропанолом до концентраций 0,02-0,30 мг/мл удалось получить стабильные рабочие растворы (хранение 3 месяца в холодильнике $T = 2 \pm 6^\circ \text{C}$) для аналитического определения методом ОФ ВЭЖХ с широким охватом полярностей подвижной фазы. Растворы с концентрациями ниже 0,02 мг/мл готовили непосредственно перед использованием.

В качестве объекта исследования была выбрана модельная инсектицидная композиция, максимально приближенная к эмульсионному концентрату на основе трех действующих веществ: фипронила, тетраметрина и альфа-циперметрина с ориентировочным содержанием 0,5, 2,0 и 10,0 массовых % соответственно. В состав модельной композиции были добавлены неионогенные поверхностно активные вещества и ортоксилол в качестве солюбилизатора.

Таблица 1. Условия проведения хроматографического разделения исследованных инсектицидных субстанций в процессе подбора метода определения

Параметры		Reprosil ODS A 5µm 150x4.6mm	ProteCol C18H 120Å 5µm 150x4.6mm (SGE Analytical Science, Trajant®)		
Скорость элюирования (мл/мин)		0.5	0.5	0.5	1.0
Подвижная фаза $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$		70:30:1	70:30:1	80:20:1	80:20:1
Субстанция [CAS Number]	Фипронил [120068-37-3]	8.4	9.2	5.9-6.6	2.9-3.4
	Тетраметрин [7696-12-0]	16.5	~20	11.0-12.5	5.4-6.1
Времена удерживания, мин)	Циперметрин [52315-07-8]	33-39	40-46	19.5-22.0	8.9-11.0
	α-Циперметрин [67375-30-8]				
Общее время анализа (мин)		45	50	25	12
Ссылка/Рисунок		[1, 2]	1 A	1 B	1 C,D

Для примера, на котором рассмотрено установление количественных характеристик химического метода анализа, был использован образец оценивания (ОО) на основе гелеобразной пищевой матрицы с несколькими действующими веществами. В качестве субстанции для оценивания был выбран тиаклоприд (содержание в ОО – 0,125%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При переносе условий хроматографирования рассматриваемых инсектицидных субстанций (на примере аналитических стандартов), предложенных ранее для метода ОФ ВЭЖХ [1–7], на использованную нами колонку ProteCol C18H 120Å 5µm 150x4,6mm (SGE Analytical Science, Trajant®, ID 2C182-05N46SG) при 280 нм были получены достаточно близкие результаты. Такой факт можно объяснить использованием родственных неподвижных фаз с привитыми C18 группами, а также идентичными условиями хроматографирования. В условиях производства гармонизованный подход к методике анализа не всегда является лучшим, поскольку зачастую используется узкая номенклатура субстанций (аналитических объектов). Одной из задач исследования являлась оптимизация условий определения с учетом специфики образца, задействованного оборудования и общих требований к робастности методики [8].

Для отработки методики одновременного анализа содержания трех действующих веществ было приготовлено модельное инсектицидное средство. В дальнейшем исследовался 1%-й раствор модельной композиции, как ранее было рекомендовано для микрокапсулированных композиций [2]. Рассматривались различные смеси органических растворителей, из которых основным был

выбран состав на основе изопропилового спирта и диметилсульфоксида (табл. 2).

При изучении режимов хроматографического определения для титульных субстанций в 1%-м растворе средства в рамках гармонизованного подхода были взяты стартовые условия – это аналитическая колонка с геометрическими параметрами 4,6×150 мм, заполненная C18 – фазой [1]. Действительно, задействованная колонка ProteCol C18H продемонстрировала даже чуть большую эффективность разделения с близкими временами удерживания для фипронила, тетраметрина и альфа-циперметрина/циперметрина для состава подвижной фазы CH₃CN : H₂O : CH₃COOH (70 : 30 : 1), скорости элюирования = 0,5 мл/мин (изократический режим) и длины волны детектирования λ = 280 нм, как ранее было рекомендовано [1, 2].

Поскольку на первом этапе было достигнуто приемлемое разделение, при дальнейшей оптимизации методики было признано целесообразным скорректировать полярность системы для сокращения общего времени анализа. Исключительно корректировкой полярности подвижной фазы до значения CH₃CN : H₂O : CH₃COOH (80 : 20 : 1) при сохранении остальных параметров неизменными удалось сократить время анализа в два раза до 25 мин (рис. 1А). В этих условиях значительно изменились времена удерживания всех определяемых субстанций (табл. 1). Однако наибольшее беспокойство вызывал значительно уширенный сигнал тетраметрина, явно перекрывающийся с аналитическими сигналами других компонентов композиции.

На следующем этапе была предпринята попытка нивелировать влияние мешающих примесей и разделить аналитические сигналы примесной/ых фаз и тетраметрина за счет изменения спектральных характеристик при детектировании компонен-

Таблица 2. Определение действующих веществ в различных экстракционных условиях, %

	Экстракционная система (результаты в одной серии)				Среднее по всем сериям	Норматив
	ИПС : ДМСО (80 : 20)	ИПС : Ацетон (50 : 50)	ИПС : Ацетон (80 : 20)	ИПС (100)		
Фипронил [120068-37-3]	0.53±0.01	0.57±0.01	0.59±0.01	0.53±0.01	0.55±0.03	0.50±0.05
Тетраметрин [7696-12-0]	1.77±0.03	1.97±0.03	1.80±0.03	1.82±0.03	1.84±0.10	1.50±0.15
α-Циперметрин [67375-30-8]	10.79±0.17	11.12±0.25	10.85±0.07	11.12±0.25	10.97±0.16	10.0±1.0

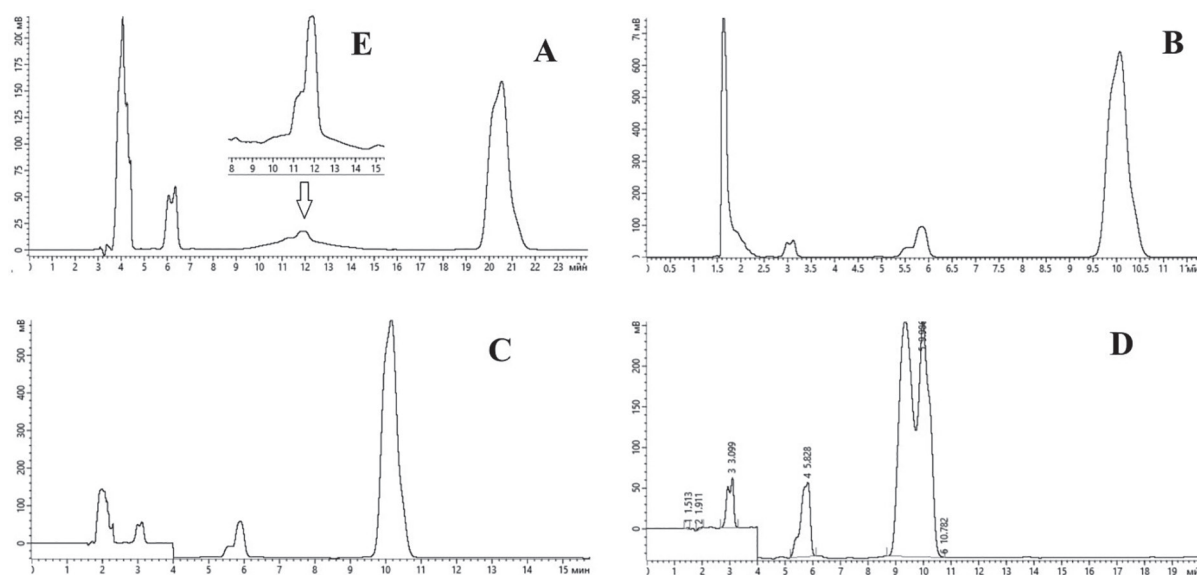


Рис. 1. Хроматограммы 1,0% по препарату экстракта (система изопропиловый спирт (ИПС) : диметилсульфоксид (ДМСО) с соотношением компонентов 80 : 20) из модельной композиции эмульсионного концентрата (колонка ProteCol C18H 120Å 5µm 150x4,6 mm условия хроматографирования представлены ниже:

система $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ (80 : 20); $\lambda = 250$ нм; 0,5 мл/мин):

А – состав подвижной фазы $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$ (80 : 20 : 1), скорость элюирования = 0,5 мл/мин (изократический режим), $\lambda = 280$ нм

В – состав подвижной фазы $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$ (80 : 20 : 1), скорость элюирования = 1,0 мл/мин (изократический режим), $\lambda = 240$ нм

С – состав подвижной фазы $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$ (80 : 20 : 1), скорость элюирования = 1,0 мл/мин (изократический режим), $\lambda = 280$ нм (с 4-й мин - $\lambda = 240$ нм)

Е – состав подвижной фазы $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$ (80 : 20 : 1), скорость элюирования = 0,5 мл/мин (изократический режим), $\lambda = 250$ нм (фрагмент с 8-й по 15-ю мин)

Д – условия, аналогичны С, для стандартного раствора субстанций: фипронил – 0,05 мг/мл, тетраметрин – 0,15 мг/мл и циперметрин – 1,0 мг/мл.

тов одновременно со скоростью хроматографирования. При изменении длины волны с 280 нм до 250 нм определение базовой линии для тетраметрина существенно улучшилось (рис. 1Е). В дальнейшем мы уменьшили длину волны до 240 нм и одновременно в два раза увеличили скорость элюирования с 0,5 мл/мин до 1,0 мл/мин, что положительно сказалось на базовой линии и сократило время анализа до 12 мин (рис. 1В). Однако в полученных условиях произошла потеря чувствительности определения фипронила из-за ухудшения спектральных характеристик – удался максимум поглощения при понижении длины волны детектирования [5].

Существует несколько путей решения проблемы уменьшения аналитического сигнала фипронила для $\lambda = 240$ нм из-за падения его спектральных характеристик, выбор конкретного лежит на разработчике аналитического метода. Самый простой из вариантов – оставить низкую интенсивность аналитического сигнала фипронила и

полагаться исключительно на чувствительность детектора (в нашем случае чувствительности хватало с запасом), но при этом значительно возрастает погрешность определения данной субстанции. Второй вариант – проводить определение дважды: при 280 нм (лучшие условия для определения фипронила) и при 240 нм (оптимальные условия для определения тетраметрина на фоне присутствия примесных фаз). Мы воспользовались третьим вариантом – поскольку используемый детектор позволял в процессе анализа менять условия детектирования, мы запрограммировали изменение длины волны от 280 нм в начале анализа и до 4 мин включительно, а затем смену длины на 240 нм до конца определения. Минусом подобной оптимизации можно считать лишь эстетическое восприятие изменения базовой линии на хроматограмме в момент переключения детектора на 4-й минуте анализа (рис. 2С). Окончательные времена анализа определяемых инсектицидных субстанций составили для фипронила – 2,9-3,4 мин,

тетраметрина – 5,4-6,1 мин и альфа-циперметрина/циперметрина – 8,9-11,0 мин. В этом случае определение фипронила осуществляется в оптимальных условиях и ошибка его определения минимальна. Необходимо отметить, что в оптимизированных условиях определения не мешали аналитические сигналы примесных фаз, при этом обеспечивалось даже разделение геометрических изомеров циперметрина, продемонстрированное на стандартном растворе субстанций (рис. 1D), а общее время анализа сократилось в 4 раза (табл. 1) по сравнению со стартовым гармонизованным методом [1, 2].

Помимо описанного выше метода определения возможен альтернативный вариант детектирования определяемых компонентов в оптимизированном режиме – использование диодноматричного детектора, который одновременно позволяет проводить определение при нескольких длинах волн. Однако данный тип детектора значительно дороже относительно использованного нами спектрофотометрического.

Использование градиентных режимов элюирования также позволит значительно сократить время анализа, но главное – может позволить разделить пики примесных фаз и определяемых субстанций (в нашем случае – тетраметрина и минорных компонентов). Однако это возможно только на более дорогостоящем оборудовании и дополнительно требует специальных растворителей, стоимость которых заметно выше. Нам удалось избежать подбора градиентных режимов еще и потому, что стабильность хроматографических характеристик при их использовании значительно уступает стабильности при использовании изократического режима [6].

После подбора условий хроматографирования необходимо перейти к установлению метрологических характеристик метода анализа, одновременно варьируя условия пробоподготовки. Для того чтобы определиться окончательно с вариантом их проведения, лучше всего провести небольшие (до 3 проб с близкими величинами навесок) серии анализов одной партии продукции с использованием различных систем растворителей (табл. 2). Анализ получаемых результатов позволит скорректировать пробоподготовку, опираясь на систему, в которой были получены максимально сбалансированные результаты по определяемым компонентам. В нашем случае результаты по тетраметрину достаточно сильно варьировались как внутри одной серии, так и между сериями; более того, показывали значительное отклонение в сторону больших, чем закладывалось, значений содержания

субстанции. Этот факт можно объяснить как систематическую погрешность анализа, к примеру, неоднородностью субстанции, погрешностью взвешивания технического продукта, плохой гомогенизацией перед отбором пробы или возможным расслаиванием образца. Наиболее вероятная причина – завышение фона сигнала за счет поглощения примесных фаз, которое, несмотря на предпринятые усилия, оказывает определенное негативное влияние.

При окончательном выборе экстракционной системы оценивается среднеквадратичное отклонение внутри одной серии. Можно оценить получаемые значения со средними значениями между сериями и сравнить их с нормодопуском, который закладывается в нормативно-техническую документацию. В нашем случае (табл. 2) была выбрана система изопропиловый спирт (ИПС) – диметилсульфоксид (ДМСО) с соотношением компонентов 80 : 20, как оптимальная и самая сбалансированная. Завышенное значение тетраметрина для всех использованных экстракционных систем можно учесть, используя метод добавок [9], однако это не всегда бывает удобно. Проще экспериментально на нескольких партиях продукции/модельных образцах попытаться выявить систематическое завышение/занижение результата анализа или провести межлабораторные сравнительные испытания одной партии продукта в разных лабораториях, сравнивая свои значения с результатами арбитражной/ых лаборатории/й. Результатом подобного рода оценки будет являться введение корректирующего коэффициента, учитывающего негативное влияние примесных фаз или низкое извлечение определяемой субстанции в экстрагирующий раствор.

Параллельно с этим необходимо определиться с метрологическими аспектами аналитического определения. Рекомендованные подходы для экоаналитических задач (обнаружение остаточных количеств в воздухе, воде, почве, продуктах питания и т. д.) и, к примеру, фармацевтике, несколько отличаются, хотя и могут быть рассмотрены в одной плоскости. Сразу необходимо оговориться, что мы в рамках данного исследования старались несколько упростить подход к выработке метрологических характеристик. Разумеется, ряд разработчиков может не пойти по этому пути и использовать рекомендованный набор требований [10]. Основанием для подобного рода «упрощения» может служить ширина диапазона, в котором располагается определяемое значение содержания инсектицида (в нашем случае, например, для субстанции альфа-циперметрин это значение

составляет $10,0 \pm 1,0\%$), что характеризуется незначительным изменением опорной медианной величины (на $\pm 10\%$). Обычно для фармацевтики оцениваются такие показатели точности, как специфичность [11, с. 22-24], точность по параметру открываемости [12; 13, р. 8-9], достоверность по параметрам повторяемости и воспроизводимости [10, часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений (5725-2-2002-1, 5725-2-2002-2, 5725-2-2002-3)], предел количественного определения [11, с. 31-33] и стабильность раствора пробы [11, с. 49; 13, р. 9-11]. Необходимо отметить, что диапазон определяемых величин в этих случаях обычно достаточно широк относительно медианного значения и составляет $\pm 400\%$ для полимерных микрокапсул [14] и микропримеси в олигомерной субстанции [15]. Величина диапазона может варьироваться, например, для твердых лекарственных форм отклонение от опорного значения составляет от 50% до 150% [16], а при определении циперметрина в воде диапазон линейности достигает значений в более чем 2000 раз [17]) и, в первую очередь, ориентирован на понижение предельной чувствительности методики за счет использования различных методических приемов и ультрачувствительных методов детектирования.

Поскольку определение продукции, произведенной в заводских условиях в достаточно узком интервале концентраций действующих веществ, не совсем равнозначно определению содержания остаточных количеств, как в случае экомониторинга, то и требования относительно калибровочных характеристик могут быть пересмотрены путем замены последних на сопоставление результата анализа с медианным значением нормативного показателя. На практике это означает, что при нормадопуске, например, для альфа-циперметрина в условиях производства для нашей модельной препаративной формы $10,0 \pm 1,0\%$ нет смысла строить калибровочную характеристику для градуировочных растворов как минимум по четырем точкам диапазона (как прописывается методически [15]), учитывая концентрацию альфа-циперметрина в средстве в условиях пробоподготовки (к примеру 9,0, 9,5, 10,0, 10,5 и 11,0%). Линейность диапазона проверяется при разработке метода, и далее ее можно не учитывать при проведении реальных измерений проб. Это приведет к проведению анализа фактически «методом одной точки», при этом в качестве контрольного рас-

твора будет выбираться раствор, содержащий медианное значение $10,0\%$ для альфа-циперметрина. Этот же раствор можно использовать для осуществления внутрилабораторного контроля, например при построении контрольных карт Шухарта [8, 18, 19]. При работе или с низкими концентрациями или на уровне чувствительности детектора, стоит придерживаться рекомендаций для ВЭЖХ/ГЖХ-методик по соотношению сигнал : шум не менее чем 3 : 1 [20].

Выбор типа аналитического стандарта и/или процедура его возможного использования/аттестации ранее были рассмотрены [1]. Тем не менее, необходимо придерживаться общих рекомендаций к выбору типа хроматографического определения (ВЭЖХ/ГЖХ), прописанных в руководящих и методических документах [21-24] для каждой конкретной субстанции или нескольких производных в случае группового определения.

Установление метрологических характеристик исходя из общих представлений может (квинт-эссенция методических документов [10, 18, 19, 25-27]) быть сведено к алгоритмизированной процедуре из трех блоков. Ниже продемонстрируем пример внедрения методики определения тиаклоприда в модельной гелеобразной приманке.

Блок 1. На первом этапе необходимо составить план исследования, в котором четко задать число серий. Поскольку для анализа продукции указывается достаточно узкий диапазон определяемых показателей (как правило не больше $\pm 10\%$), то рекомендуем не предъявлять высоких требований при разработке метрологических аспектов методики количественного химического анализа (КХА), а наоборот, минимизировать число серий и повторностей – одна серия и 30 образцов для оценивания (ОО), исследуемых в двух повторностях.

Блок 2. Провести исследования в соответствии с заданием и набрать необходимую статистику.

Блок 3. Провести оценку полученных результатов и вычислить необходимые метрологические значения КХА, по результатам которых принять окончательное решение о разработке метода и его внедрении в практику лаборатории.

Разумеется, число ОО может быть сокращено в случае высоких затрат (финансовых, временных или приборных), однако необходимо понимать, что при этом пострадает качество проводимых процедур. При этом к самим процедурам должно быть привлечено максимальное число допускаемых операторов и срок не должен быть ограничен одним днем.

Расчет метрологических характеристик

Будут оцениваться полученные в ходе экспериментов показатели качества:

- σ_{rA} – показатель повторяемости результатов анализа,
- σ_{RA} – показатель внутрилабораторной прецизионности результатов анализа,
- Δ_A – показатель точности результатов анализа,
- Δ_{CA} – показатель правильности повторяемости результатов анализа, которые сопоставляются с показателями качества методики анализа (приписываемыми метрологическими характеристиками): линейностью градуировочных характеристик, пределом обнаружения, процедурой пробоподготовки. Далее окончательно определяются метрологические характеристики погрешности определения.

Расчет показателей качества результатов анализа проводят по следующим формулам:

Расчет показателя повторяемости результатов анализа: $\sigma_{rA} \sim S_r$

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum S_i^2}{L}}$$

Расчет показателя внутрилабораторной прецизионности результатов анализа: $\sigma_{RA} \sim S_R$

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum (X_{cp} - X)^2}{L - 1}}$$

Расчет показателя точности результатов анализа:

$$\begin{aligned} \pm \Delta_A &= \pm 1,96 \cdot \sigma(\Delta_0) \\ \sigma(\Delta_0) &= 2 \cdot \sigma_r \\ \pm \Delta_A &= \pm 1,96 \cdot 2 \cdot \sigma_r \end{aligned}$$

Расчет показателя правильности результатов анализа

$$\Delta_{CЛ,В} = |\Delta_{CЛ,Н}| = \Delta_{CЛ} = 2 \cdot \sqrt{\frac{S_R^2}{L} - \frac{A_0^2}{3}} = 2 \cdot \sigma_{CЛ}$$

Метрологические характеристики результатов анализа, полученные в лаборатории, используют в описании к новой методике или сравнивают с уже имеющимися при внедрении существующей методики. В последнем случае оценивается выполнение следующих условий:

при $\sigma_{rA} \leq \sigma_r$, $\sigma_{RA} \leq \sigma_{Rr}$, $\Delta_A \leq \Delta_r$, $\Delta_{CA} \leq \Delta_{C'}$ – принимают решение о соответствии процедуры анализа в лаборатории требованиям методик количественного химического анализа.

Первичные данные в ходе оценивания образца гелеобразного инсектицидного средства, содержащего в качестве одного из действующих веществ 0,125% тиаклоприда, представлены в таблице 3.

1. Опираясь на полученные данные (результаты единичного измерения) после расчета среднего арифметического результатов единичного анализа X_{cp}

$$X_{cp} = \frac{X_1 + X_2}{n},$$

где n – количество параллельных определений, в программе Excel рассчитываются внутрилабораторные метрологические характеристики методики, начиная с выборочной дисперсии S_i^2 .

Выборочную дисперсию S_i^2 рассчитывают по следующей формуле:

$$S_i^2 = \frac{\sum_{i=1}^2 (X_i - X_{cp})^2}{n - 1},$$

где $X_i = X_1$ и X_2 поочередно,
 n – количество параллельных определений ($n = 2$).
Для примера приведем расчет S_i^2 для $L=1$ и $L=2$:

$$\begin{aligned} S_1^2 &= (0,1215 - 0,122)^2 + (0,1215 - 0,121)^2 = \\ &= 0,0005^2 + 0,0005^2 = 0,00000025 + 0,00000025 = \\ &= 0,0000005 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S_2^2 &= (0,1215 - 0,120)^2 + (0,1215 - 0,123)^2 = \\ &= 0,0015^2 + (-0,0015)^2 = 0,00000225 + 0,00000225 = \\ &= 0,0000045 \end{aligned}$$

и т. д. до S_{30}^2 .

2. Рассчитывается среднее значение измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности ($L=30$)

$$X_m = \frac{\sum X_{cp}}{L}$$

Для нашего примера: $3,606/30 = 0,120\%$.

Таблица 3. Результаты анализа содержания триклоприда в 00 модельной гелеобразной приманке

Номер ОО	Результат единичного измерения, полученного в условиях повторяемости		Среднее арифм.	Номер ОО	Результат единичного измерения, полученного в условиях повторяемости		Среднее арифм.
	Значение 1	Значение 2			Значение 1	Значение 2	
1	0,122	0,121	0,122	16	0,122	0,121	0,122
2	0,120	0,123	0,122	17	0,120	0,123	0,122
3	0,123	0,123	0,123	18	0,123	0,123	0,123
4	0,110	0,113	0,112	19	0,110	0,113	0,112
5	0,125	0,122	0,124	20	0,125	0,122	0,124
6	0,122	0,121	0,122	21	0,122	0,121	0,122
7	0,120	0,123	0,122	22	0,120	0,123	0,122
8	0,123	0,123	0,123	23	0,123	0,123	0,123
9	0,110	0,113	0,112	24	0,110	0,113	0,112
10	0,125	0,122	0,124	25	0,125	0,122	0,124
11	0,122	0,121	0,122	26	0,122	0,121	0,122
12	0,120	0,123	0,122	27	0,120	0,123	0,122
13	0,123	0,123	0,123	28	0,123	0,123	0,123
14	0,110	0,113	0,112	29	0,110	0,113	0,111
15	0,125	0,122	0,124	30	0,125	0,122	0,124

3. Рассчитывается среднеквадратичное отклонение (СКО) результатов единичного анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности, т. е. СКО средних арифметических двух параллельных измерений X_{cp} относительно общего среднего X_m :

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{L=1}^{30} (X_m - X_{cp})^2}{L - 1}}$$

В данном случае $S_R = \sqrt{(0,00059/29)} = 0,0045\%$.

4. Рассчитываются дополнительные характеристики:

сумма квадратов отклонений каждого среднего результата параллельных измерений от общего среднего:

$$\sum_{L=1}^{30} (X_m - X_{cp})^2 = 0,00059,$$

сумма дисперсий параллельных измерений:

$$\sum S_i^2 = 0,000084.$$

5. Проверяют однородность выборки.

5.1. С использованием критерия Кохрена.

Значение критерия Кохрена $G_{(max)}$ рассчитывают по формуле:

$$G_{(max)} = \frac{(S_i^2)_{max}}{\sum_{L=1}^{30} S_i^2},$$

$(S_i^2)_{max}$ – максимальная дисперсия (таблица Е.1 [25]) $S_i^2 = 0,0000045$,

$$\sum S_i^2 = 0,000084,$$

$$G_m = 0,0000045 / 0,000084 = 0,053,$$

и сравнивают полученную величину $G_m = 0,053$ с $G_{табл}$, приведенной в [25], для числа степеней свободы $v = N - 1 = 2 - 1 = 1$, соответствующего максимальной дисперсии $f = L(N - 1) = 30(2 - 1) = 30$ и принятой вероятности $P = 0,95$; $G_{табл} = 0,293$.

Получилось, что $G_m < G_{табл}$, что означает: дисперсии однородны.

В случае если $G_{m(max)} > G_{табл}$, делают заключение о том, что дисперсии не однородны и соответствующую максимальную выборочную дисперсию $(S_i^2)_{max}$ исключают из процедуры расчета. Вся процедура повторяется для следующей по значению максимальной выборочной дисперсии $(S_i^2)_{max}$ до тех пор, пока не

получится удовлетворительный результат, в соответствии с условием $G_m < G_{\text{табл}}$.

Количество отброшенных выборочных дисперсий не должно превышать $\frac{1}{3}$ от общей выборки (т.е. 10).

Критерий Кохрена в основном используют, если количество выборок больше трех и для выявления серий, разброс в которых аномально высок.

5.2. С использованием критерия Граббса (наиболее используемый критерий).

Для результатов анализа каждого ОО (в нашем случае для $C=0,125\%$) находят максимальное и минимальное значения средних арифметических двух результатов единичных измерений (две повторности) $X_{\text{cp,min}}=0,1115\%$ и $X_{\text{cp,max}}=0,1235\%$.

Для найденных $X_{\text{cp,min}}$ и $X_{\text{cp,max}}$ рассчитывают статистику Граббса по формулам:

$$GR_{\text{max}} = \frac{x_{\text{cp,max}} - x_m}{S_R} \text{ и } GR_{\text{min}} = \frac{x_m - x_{\text{cp,min}}}{S_R}$$

и сравнивают их с критическим значением $GR_{\text{табл}}$ для числа степеней свободы $f=L-1$, соответствующего числу результатов и принятой доверительной вероятности $P=0,95$ (Таблица А.1 [27]).

В нашем примере

$$GR_{\text{max}} = \frac{(0,1235-0,12)}{0,0045} = 0,73 \text{ и } GR_{\text{min}} = \frac{(0,12-0,1115)}{0,0045} = 1,89.$$

$GR_{\text{табл}}=2,893$, т.е. GR_{max} и GR_{min} меньше $GR_{\text{табл}}$.

Если $GR_{\text{max}} > GR_{\text{табл}}$ и/или $GR_{\text{min}} > GR_{\text{табл}}$, то соответствующие результаты $X_{\text{cp,min}}$ и/или $X_{\text{cp,max}}$ из дальнейших расчетов исключают.

Процедуру проверки на наличие выбросов продолжают до тех пор, пока не будут выполнены условия: $GR_{\text{max}} \leq GR_{\text{табл}}$ и/или $GR_{\text{min}} \leq GR_{\text{табл}}$.

6. После исключения из выборки грубых промахов, если таковые имеются, заново рассчитывают среднее арифметическое, сумму дисперсий и СКО всех результатов. Общее количество результатов при этом уменьшится на количество грубых промахов.

7. Расчет показателя повторяемости.

Не исключенные из расчета S_i^2 считают однородными, и по ним оценивают СКО, характеризующее повторяемость результатов единичного анализа (параллельных определений), полученных для содержания, соответствующего содержанию тиаклоприда в ОО.

СКО рассчитывают по формуле:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{L=1}^{L=n} S_i^2}{L}},$$

где в числе слагаемых нет отброшенных значений.

Для нашего примера $S_r = \sqrt{(0,000084/30)} = 0,0017\%$.

Показатель повторяемости результатов анализа в виде СКО σ_r (в %) для содержаний, соответствующих содержанию тиаклоприда в ОО, устанавливают, принимая равным S_r :

$$\sigma_r \approx S_r$$

Установленные значения σ_r сравнивают со значениями характеристики повторяемости методики анализа σ_r (в нашем случае мы устанавливаем это значение сами и $\sigma_r = \sigma_r$). В случае если σ_r было задано внедряемой методикой, например 5%, переводят % в доли и определяют σ_r следующим образом: $\sigma_r = 0,01 \cdot \sigma_r$ (%),

$$C_{\text{тиаклоприда, \%}} = 0,01 \cdot 5 \cdot 0,125 = 0,0062\%.$$

В итоге получаем следующее сравнение: $0,0017 < 0,0062$. Делаем вывод, что критерий выполняется.

В случае если $\sigma_r > \sigma_r$, делают вывод о недостаточном внедрении в лаборатории конкретной методики анализа и определяют мероприятия по проверке соблюдения процедуры анализа.

В случае если $\sigma_r \leq \sigma_r$, показатель повторяемости результатов анализа принимают равным σ_r .

8. Оценка показателей внутрилабораторной прецизионности:

Данную оценку осуществляют с использованием результатов анализа, на основе которых был оценен показатель повторяемости результатов анализа.

Рассчитывают общее среднее арифметическое значение результатов анализа:

$$X_m = \frac{\sum X_{\text{cp}}}{L}$$

Для нашего примера: $3,606/30=0,12\%$.

Рассчитывают СКО результатов единичного анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности, т.е. СКО средних арифметических двух параллельных измерений X_{cp} относительно общего среднего X_m (см. выше пункт 3).

$$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{L=1}^{30} (X_m - X_{\text{cp}})^2}{L-1}}$$

В нашем случае $S_R=0,0045\%$.

Показатель внутрилабораторной прецизионности в виде СКО $\sigma_{R\lambda}$ (в единицах измерения содержания тиаклоприда, т. е. %) для содержаний, соответствующих компоненту в ОО, устанавливаются, принимая равным СКО S_R средних арифметических двух параллельных измерений. Далее проводят аналогичные процедуры, описываемые выше в пункте 8.

9. Оценка показателя точности результатов анализа.

Данное значение $\pm\Delta_\lambda$ вычисляется исходя из суперпозиции следующих уравнений:

$$\pm\Delta_\lambda = \pm 1,96 \sigma(\Delta_o)$$

$$\sigma(\Delta_o) = 2 \cdot \sigma_r$$

$$\pm\Delta_\lambda = \pm 1,96 \cdot 2 \cdot \sigma_r \text{ (в нашем случае } \sigma_r = 0,0045\%).$$

Для нашего случая $\pm\Delta_\lambda = \pm 1,96 \cdot 2 \cdot \sigma_r = \pm 1,96 \cdot 2 \cdot 0,0045 = 0,0176\%$.

10. Оценка показателей правильности результатов анализа:

Рассчитывают оценку математического ожидания систематической погрешности лаборатории θ_λ как разность между общим средним арифметическим значением результатов анализа X_m и аттестованным значением C_m ОО по формуле:

$$\theta_\lambda = |X_m - C_m|, \text{ в нашем случае } \theta_\lambda = 0,005.$$

Далее рассчитывают значение критерия Стьюдента t_m :

$$t = \frac{|\theta_\lambda|}{\sqrt{\frac{S_R^2}{L} + \frac{\Delta_o^2}{3}}}$$

где Δ_o^2 – погрешность аттестованного значения в ОО (в единицах измерения содержания определяемого компонента, т. е. в нашем случае %),

S_R^2 – дисперсия внутрилабораторной прецизионности.

Полученное значение t сравнивают с $t_{\text{табл}}(f)$ при числе степеней свободы $f=L-1$ для доверительной вероятности $P=0,95$ (значения $t_{\text{табл}}(f)$ приведены в таблице Д.1 [27]). В нашем случае $t=1,67$, а $t_{\text{табл}}(f)=2,04$.

Если $t \leq t_{\text{табл}}(f)$, то оценка математического ожидания систематической погрешности лаборатории незначима на фоне случайного разброса, и в этом случае ее принимают равной нулю ($\theta_\lambda=0$).

Если $t > t_{\text{табл}}(f)$, то оценка систематической погрешности значима на фоне случайного разброса. В этом случае может быть принято решение о введении в результаты анализа, получаемые при реализации данной методики в лаборатории, поправки на значение θ_λ , т. е. θ_λ ,

соответствующее содержанию $C-\theta_\lambda$ (C), вычитают из любого результата анализа, полученного согласно методике в конкретной лаборатории.

При незначимости θ_λ или принятом решении о введении в результаты анализа поправки показатель правильности результатов анализа (верхнюю $\Delta_{C\lambda,H}$ и нижнюю $\Delta_{C\lambda,B}$ границы, в которых не исключенная систематическая погрешность лаборатории для содержаний, соответствующих содержанию определяемого компонента в ОО, находится с принятой вероятностью $P=0,95$) рассчитывают по формуле:

$$|\Delta_{C\lambda,B} = |\Delta_{C\lambda,H}| = \Delta_{C\lambda} = 2 \cdot \sqrt{\frac{S_R^2}{L} - \frac{\Delta_o^2}{3}} = 2 \cdot \sigma_{C\lambda}.$$

Для нашего случая $\Delta_{C\lambda,B} = |\Delta_{C\lambda,H}| = 0,006\%$.

Если следующие условия выполняются: $\sigma_{R\lambda} < \sigma_r$, $\Delta_\lambda < \Delta_r$, то принимают решение:

- о соответствии процедуры анализа в лаборатории требованиям к методикам количественного химического анализа для данного диапазона измерений;
- методика считается внедренной в лаборатории для данного диапазона измерений.

Отдельно необходимо остановиться на описании таких объектов анализа, для которых достигается хорошее разделение и реализация нескольких хроматографических сигналов одновременно (геометрические или оптические изомеры). В этом случае при разработке метода анализа нужно четко прописывать условия обработки аналитического/их сигнала/ов. Возможны следующие варианты: учет суммы всех аналитических сигналов (например, все изомерные субъединицы); нескольких сигналов, относящихся только к одной группе (например, только цис- или только транс- формы); сигнала самого активного изомера. У каждой из этих возможностей есть свои плюсы и минусы, которые необходимо оценить и постулировать или прописывать возможность реализации сразу нескольких вариантов при внедрении. Более осторожно нужно подходить к внедрению методик анализа природных многокомпонентных систем, где приходится самим выбирать реперные соединения для оценивания [28].

В дальнейшем мы рассмотрим особенности прободготовки и подбора оптимальных условий хроматографирования при проведении оценки различных инсектицидных композиций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе были рассмотрены методические подходы к определению сразу нескольких инсектицидных

субстанций в инсектицидном концентрате. Поэтапно показаны возможности оптимизировать условия хроматографического разделения всех трех субстанций разных групп инсектицидов, использующихся в практике pest control. Показан пример установле-

ния основных характеристик количественного химического анализа и всех базовых валидационных процедур, необходимых для внедрения методики в лаборатории с отсылкой к действующим нормативным документам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ REFERENCES

1. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Гармонизация определения инсектицидных субстанций для целей контроля производства и мониторинга готовых композиций. I. Постановка аналитической задачи // Пест-менеджмент №1 2022. – С. 29-40. [Nosikova L.A., Kochetov A.N. Harmonization of the definition of insecticidal substances for the purposes of production control and monitoring of finished compositions. I. Formulation of the analytical problem // Pest management (ISSN 2076-8462). 2022 (1). – 29-40. doi: 10.25732/PM.2022.121.1.004.] [In Russian].
2. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Аспекты производства и контроля микрокапсулированных инсектицидных композиций. II. Аналитическое определение инсектицидных субстанций хроматографическими методами // Пест-менеджмент. №4 2020. – С. 26-37. [Nosikova L.A., Kochetov A.N. Aspects of production and control of microcapsulated insecticide compositions. II. Analytical determination of insecticidal substances by chromatographic methods // Pest management (ISSN 2076-8462). 2020 (4). – 26-37. doi: 10.25732/PM.2020.116.4.004.] [In Russian].
3. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Возможности определения лямбда-цигалотрина в микрокапсулированных инсектицидных композициях // Тонкие химические технологии. 2016. – Т. 11. – № 1. – С. 45-52. [Novikova L.A., Kochetov A.N. Possibility of determination of lambda-cyhalothrin in a microencapsulated insecticidal compositions // Fine chemical technology (ISSN 2410-6593). – 2016. – 11(1). – 45-52. doi: 10.32362/2410-6593-2016-11-45-52.] [In Russian].
4. Носикова Л.А., Кочетов А.Н., Матвеев А.А. Методические подходы к определению инсектицидных субстанций (имдаклоприд и тетраметрин в присутствии пиперонилбутоксидов) в аэрозольном средстве // Пест-менеджмент №3 2018. – С. 31-39. [Nosikova L.A., Kochetov A.N., Matveev A.A. Methodical approaches to determination of insecticidal substances (imidacloprid, and tetramethrin in the presence of piperonylbutoxide) in an aerosol medium // Pest management (ISSN 2076-8462). – 2018 (3). – 30-39.] [In Russian].
5. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Анализ инсектицидных гелей, содержащих фипронил, методом ОФ ВЭЖХ // Тонкие хим. технологии. – 2018. – Т. 13. – № 2. – С. 72-80. [Nosikova L.A., Kochetov A.N. Analysis of insecticide gels containing fipronil by RP HPLC // Fine chemical technology (ISSN 2410-6593). – 2018. – 13(2). – 72-80.] [In Russian].
6. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Оптимизация определения действующих веществ в инсекто-родентицидных средствах на основе фипронила с производными 4-гидроксикумарина методом ОФ ВЭЖХ // Пест-менеджмент №4 2018. – С. 22-29. [Nosikova L.A., Kochetov A.N. Optimization of the determination of active substances in insectorodenticide means on the basis of fipronil derivatives with 4-hydroxycoumarin by the method of RP HPLC // Pest management (ISSN 2076-8462). – 2018 (4). – 22-29. doi: 10.25732/PM.2019.108.4.004.] [In Russian].
7. Носикова Л.А., Кочетов А.Н., Хряпин Р.А. Пути повышения эффективности педикулицидов и зоошампуней при использовании инсектицидных субстанций // Пест-менеджмент №4 2021. – С. 12-21. [Nosikova L.A., Kochetov A.N., Khryapin R.A., Ways to increase the effectiveness of pediculicides and pet shampoos when using insecticidal substances // Pest management (ISSN 2076-8462). – 2021 (4). – 12-21. doi: 10.25732/PM.2021.120.4.003.] [In Russian].
8. Эпштейн Н.А., Севастьянова В.Л., Королева А.И. Исследование робастности при валидации методик ВЭЖХ и УЭЖХ: современный подход, включающий анализ рисков // Разработка и регистрация лекарственных средств №1 2018. – С. 96-109. [Epstein N.A., Sevostyanova V.L., Koroleva A.I. Study of robustness in validation of HPLC and UPLC techniques: a modern approach including risk analysis // Development and registration of medicines (ISSN 2305-2066). 2018 (1). – 96-109.] [In Russian].
9. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е. Особенности метода стандартной добавки для количественного определения аналитов в сложных матрицах, обладающих сорбционными свойствами // Аналитика и контроль. – 2010. – Т. 14. – № 3. – С. 164-171. [Zenkevich I.G., Morozova T.E. Features of the standard additive method for quantitative determination of

analytes in complex matrices with sorption properties // *Analytics and control* (ISSN 2073-1442). – 2010. – 14(3). – 164-171. [In Russian].

10. ГОСТ Р ИСО 5725-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. [GOST R ISO 5725-2002. Accuracy (correctness and precision) of measurement methods and results.] [In Russian].

11. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности: методические рекомендации, Спорт и Культура – 2000. – Москва (2007). – с. 190. [Guidelines for pharmaceutical industry enterprises: methodological recommendations (ISBN 978-5-901682-46-4), Moscow: Sport and Culture – 2000 (2007). – p. 190.] [In Russian].

12. AOAC, Peer-Verified Methods Program: manual on policies and procedures. – USA. – 1997. – P. 35. [<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.196.7223&rep=rep1&type=pdf>]

13. FDA Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry. – May 2018. [<https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>]

14. Тхань Т.Н.Т., Кедик С.А., Балдаев А.Е., Беляков С.В., Суслов В.В., Ворфоломеева Е.В., Петрова Е.А., Бексаев С.Г. Разработка и валидация метода количественного определения диклофенака в полимерных микросферах // *Тонкие хим. технологии*. – 2015. – Т. 10. – № 1. – С. 56-59. [Tkhan T., Kedik S.A., Baldaev A.E., Belyakov S.V., Suslov V.V., Vorfolomeeva E.V., Petrova E.A., Beksaev S.G. Elaboration and validation of method of quantitative determination of diclofenac in polymeric microspheres // *Fine chemical technology* (ISSN 2410-6593). – 2015. – 10(1). – 56-59.] [In Russian].

15. Кедик С.А., Шаталов Д.О., Бексаев С.Г., Седисhev И.П., Жаворонок Е.С., Суслов В.В., Панов А.В. Разработка и валидация способа контроля примесей мономера гидрохлорида гуанидина в фармацевтической субстанции “олиго(гексаметиленгуанидин) гидрохлорида с разветвленной цепью” // *Тонкие хим. технологии*. – 2014. – Т. 9. – № 2. – С. 32-36. [Kedik S.A., Shatalov D.O., Beksaev S.G., Sedishev I.P., Zhavoronok E.S., Suslov V.V., Panov A.V. Development and validation of the method of control monomer impurities guanidine hydrochloride in pharmaceutical substance “branched hydrochloride oligo(hexamethyleneguanidine)” // *Fine chemical technology* (ISSN 2410-6593). – 2014. – 9(2). – 32-36.] [In Russian].

16. Баталова Т.Л., Остапюк О.А., Савельева К.Р., Андреевичева Т.Ю., Персанова Л.В., Поляков С.В., Шестаков В.Н. Разработка и валидация методики ко-

личественного определения эторикоксиба в твердых лекарственных формах методом ВЭЖХ // *Разработка и регистрация лекарственных средств №1* 2018. – С. 90-95. [Batalova T.L., Ostapyuk O.A., Savelyeva K.R., Andreevicheva T.Yu., Persanova L.V., Polyakov S.V., Shestakov V.N. Development and validation of the method of quantitative determination of etoricoxib in solid dosage forms by HPLC // *Development and registration of medicines* (ISSN 2305-2066). 2018 (1). – 90-95.] [In Russian].

17. Амелин В.Г., Лаврухин Д.К., Третьяков А.В., Ефремова А.А. Определение полярных пестицидов в воде, овощах и фруктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. – 2012. – Т. 53. – № 6. – С. 392-400. [Amelin V.G., Lavrukhin D.K., Tretyakov A.V., Efremova A.A. Determination of polar pesticides in water, vegetables and fruits by highperformance liquid chromatography // *Moscow University Chemistry Bulletin* (ISSN 0027-1314). – 2012. – 67(6). – 275-282.] [In English].

18. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015. Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта. [GOST R ISO 7870-2-2015. Statistical methods. Control cards. Part 2. Shuhart Control Cards.] [In Russian].

19. РМГ 76-2014 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. [RMG 76-2014 State system of ensuring the uniformity of measurements. Internal quality control of the results of quantitative chemical analysis.] [In Russian].

20. Руководство по утверждению методики анализа и калибровке оборудования, предназначенных для исследования запрещенных наркотиков в изъятых материалах и биологических пробах. – Нью-Йорк. – 2009. – С. 14. [Guidelines for the approval of methods of analysis and calibration of equipment intended for the study of illicit drugs in seized materials and biological samples. – New-York. – 2009. – p. 14.] [In Russian] [<https://www.unodc.org/documents/scientific/validation-R.pdf>]

21. Р 4.2.2643-10 Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности, Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва. – 2010. – с. 27-52. [Р 4.2.2643-10 Methods of laboratory testing and testing of disinfectants to assess their effectiveness and safety, 2010, p. 27-52] [In Russian].

22. Современные вопросы дезинфектологии, ФБУН «НИИДезинфектологии» Роспотребнадзора.

– Москва. – 2018. – сс. 405-420. [Modern issues of disinfection. – Moscow. – 2018. – pp. 405–420, ISBN 978-5-6040817-3-0] [In Russian].

23. Крейнгольд С.У., Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов. – ЦИОРИД Биор. – Москва. – 1998. – с. 150. [Kreyngold S.U. A practical guide to chemical analysis disinfection drugs. – Moscow. – CYORIDE Bior. – 1998. – p. 150] [In Russian].

24. Крейнгольд С.У., Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов. – Экспресспринт. – Москва (2002). – с. 156. [Kreyngold S.U. A practical guide to chemical analysis disinfection drugs. – Moscow. – Expressprint. – 2002. – p. 156] [In Russian].

25. ГОСТ Р ИСО 16269-4-2017 Статистические методы. Статистическое представление данных. Часть 4. Выявление и обработка выбросов. [GOST R ISO 16269-4-2017 Statistical methods. Statistical representation of data. Part 4. Identification and processing of emissions.] [In Russian].

26. Р 50.2.060-2008 Методы оценки, внедрение стандартизованных методик количественного

химического анализа в лаборатории. Подтверждение соответствия установленным требованиям. [P 50.2.060-2008 Assessment methods, introduction of standardized methods of quantitative chemical analysis in the laboratory. Confirmation of compliance with the established requirements.] [In Russian].

27. ГОСТ Р 8.736-2011 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. [GOST R 8.736-2011 State system for ensuring the uniformity of measurements (GSI). Direct multiple measurements. Methods of processing measurement results. Basic provisions.] [In Russian].

28. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Оценка возможностей определения методом ОФ ВЭЖХ содержания природных масел в репеллентных композициях // Тонкие хим. технологии. – 2015. – Т. 10. – № 5. – С. 54-59. [Nosikova L.A., Kochetov A.N. Evaluation of possible approaches to the determination by method RP HPLC natural oils in repellent compositions // Fine chemical technology (ISSN 2410-6593). – 2015. – 10(5). – 54-59.] [In Russian].

Harmonization of the definition of insecticidal substances for the purposes of production control and monitoring of finished compositions.

II. Development of the method of determination and its implementation

Nosikova L.A.^{1,2}, Kochetov A.N.^{1,2}, e-mail: kochchem@mail.ru

¹ M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo Pr., Moscow 119571, Russia)

² A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences (IPCE RAS), (31, LeninskyPr, Moscow, 119991, Russia)

Corresponding author e-mail: kochchem@mail.ru

On a concrete example, the possibility of determination by the method of HPLC in a complex multicomponent composition based on three active substances of insecticidal substances of two different groups – pyrethroid insecticides (tetrametrin and alphacypermethrin) and a derivative of the phenylpyrazolone series (fipronil) is considered. The variants of solving the analytical problem are shown on the model solutions and the experimental sample, the aspects of the transfer of substances from the simplest variant of the preparation form (emulsion concentrate) to the solution are considered. Algorithms for creating a methodology and sequentially establishing metrological characteristics of quantitative chemical analysis are shown on the example of a substance of the neonicotinoid series (thiacloprid) embedded in a food gel matrix. Recommendations on the creation of methods for a wide range of insecticidal substances used in the practice of «pest control» are given.

Keywords: insecticidal substances, determination of content, pest control, active substance, pyrethroids, phenylpyrazolones, neonicotinoids, RP HPLC, fipronil, tetramethrin, cypermethrin, alphacypermethrin, thiacloprid, isomer composition